

DRUG PREPARATION OF COMPLEX OF POLYRIBOINOSINIC ACID, POLYRIBOCYTIDYLIC ACID AND POLY-L-LYSINE

Publication number: JP1186818

Publication date: 1989-07-26

Inventor: NOJIMA SHIGEO; KIMURA TETSUO; MACHIDA HARUHIKO

Applicant: YAMASA SHOYU KK; TOA EIYO LTD

Classification:

- International: A61K31/715; A61K47/00; A61K47/36; A61K47/42;
A61P43/00; A61K31/715; A61K47/00; A61K47/36;
A61K47/42; A61P43/00; (IPC1-7): A61K31/715;
A61K31/725; A61K47/00

- European:

Application number: JP19880008131 19880118

Priority number(s): JP19880008131 19880118

[Report a data error here](#)

Abstract of JP1186818

PURPOSE: To obtain a freeze-dried drug preparation having improved solubility and stability after the storage over a long period and useful as an antitumor agent, by adding a soluble protein and polysaccharide as constituent components to a polyriboinosinic acid.polyribocytidyllic acid.poly-L-lysine complex. CONSTITUTION: A freeze-dried drug preparation composed of a polyriboinosinic acid.polyribocytidyllic acid.poly-L-lysine complex is added with a soluble protein and/or polysaccharide as constituent components. The soluble protein is gelatin, collagen or serum albumin or a mixture of two or more of the above proteins. The polysaccharide is dextrin, dextran, chondroitin sulfate or a mixture of two or more of the polysaccharides. The amounts of the soluble protein and the polysaccharide are preferably 0.3-30pts.wt., and 0.1-30pts.wt. per 1pt.wt. of the complex, respectively.

Data supplied from the **esp@cenet** database - Worldwide

⑫ 公開特許公報 (A) 平1-186818

⑬ Int. Cl.

A 61 K 31/715
31/725
47/00
//(A 61 K 31/715
31/785)

識別記号

ABH
336
342

府内整理番号

7431-4C
7431-4C
G-7417-4C
G-7417-4C

⑭ 公開 平成1年(1989)7月26日

7431-4C審査請求 未請求 請求項の数 3 (全5頁)

⑮ 発明の名称 ポリリボイノシン酸・ポリリボシチジル酸・ポリ-L-リジン複合
体製剤

⑯ 特願 昭63-8131

⑯ 出願 昭63(1988)1月18日

⑰ 発明者	野島 茂生	埼玉県新座市新座1丁目17番9号
⑰ 発明者	木村 哲夫	福島県伊達郡桑折町字館8番3号
⑰ 発明者	町田 治彦	千葉県銚子市栄町2丁目2番地の2
⑰ 出願人	ヤマサ醤油株式会社	千葉県銚子市新生町2丁目10番地の1
⑰ 出願人	トーアエイヨー株式会社	東京都中央区京橋3丁目1番2号

明細書

1. 発明の名称

ポリリボイノシン酸・ポリリボシチジル酸・ポリ-L-リジン複合体製剤

2. 特許請求の範囲

(1) ポリリボイノシン酸・ポリリボシチジル酸・ポリ-L-リジン複合体の凍結乾燥製剤であって、構成成分として可溶性蛋白及び/又は多糖類を含有することを特徴とする凍結乾燥製剤。

(2) 可溶性蛋白がゼラチン、コラーゲン及び血清アルブミンから選ばれた1種又は2種以上の混合物である特許請求の範囲第(1)項に記載の凍結乾燥製剤。

(3) 多糖類がデキストラン、デキストリン及びコンドロイチン硫酸から選ばれた1種又は2種以上の混合物である特許請求の範囲第(1)項に記載の凍結乾燥製剤。

3. 発明の詳細な説明

〔商業上の利用分野〕

本発明はポリリボイノシン酸・ポリリボシチジル酸・ポリ-L-リジン複合体(以下、ポリ(ILC)と省略する。)製剤に関する。

インターフェロン(以下、IFNと省略する。)誘発物質として知られるポリリボイノシン酸・ポリリボシチジル酸(以下、ポリ(I)・ポリ(C)と省略する。)は、各種合成ポリヌクレオチドの中では最も高い誘発活性を有する。しかし、ウサギ及びマウスなどのげっ歯類においては高いIFN誘発活性を示すものの、ヒトをはじめとする靈長類におけるその誘発活性は極めて低い。この原因は、靈長類ではポリ(I)・ポリ(C)を分解する酵素である血中リボヌクレアーゼの活性が、げっ歯類に比べて極めて高く、ポリ(I)・ポリ(C)が体内で容易に分解されてしまうためであると考えられている。このため、ポリ(I)・ポリ(C)にリボヌクレアーゼ抵抗性を付与するための試みが活発に展開され、多糖類やポリペプチドとの複合体が種々開発されてきた。ポリ(ILC)はそのなかのひとつであり、靈長類において

も高いIFN誘発活性を示すことから、有用な抗腫瘍剤あるいは免疫賦活剤として期待されてい

〔従来技術〕

ポリ(ICL)は、ポリ(I)・ポリ(C)水溶液とポリーレーリジン水溶液を混合することにより調製され、通常ポリ(ICL)水溶液として保存される。しかし、ポリ(ICL)水溶液は不安定であり、例えば、高速ゲルバーミエイションクロマトグラフィー(以下、HPLCと省略する。)において、経時的な分子量分布の変化が観察されるなど、保存中、徐々に変質する。

ポリ(ICL)のIFN誘発活性は、ポリ(ICL)中のポリ(I)及びポリ(C)の分子量分布と、ポリ(ICL)の高次構造に依存すると考えられることから、保存中の分子量分布の経時的変化は、IFN誘発活性に影響を及ぼす恐れがある。このため、保存安定性の優れた製剤の開発が望まれている。

水溶液で不安定な医薬品を製品化するためには、

既、通常用いられる賦形剤、例えばマンニトール等を添加して凍結乾燥製剤とした場合には長期間の保存により、再溶解時の澄明性が低下するなど、溶解性が悪くなるという欠点を有していた。

〔課題を解決するための手段〕

本発明者らは、これらの欠点を改善する目的で、鋭意検討した結果、意外にも可溶性蛋白及び/又は多糖類等の特定の物質を加えて凍結乾燥することにより、長期保存後の溶解性及び安定性が著しく向上することを見出し、本発明を完成するに至った。

すなわち、本発明は、ポリリボイノシン酸・ポリリボシチジル酸・ポリーレーリジン複合体の凍結乾燥製剤であって、構成成分として可溶性蛋白及び/又は多糖類を含有することを特徴とする凍結乾燥製剤に関する。

本発明で使用するポリ(I)・ポリ(C)は、沈降定数がいずれも4S~11Sであるポリ(I)とポリ(C)とから構成され、スクレオチドとしてのモル比が1.0:0.5~2.0、好ましく

しばしば凍結乾燥の手段が用いられる。ポリ(I)・ポリ(C)及びポリーレーリジンについては、凍結乾燥品として入手可能であり、これらの水溶液を凍結乾燥することは従来技術に属する。しかしながら、ポリ(ICL)については、特開昭56-53621号及び特開昭61-103824号明細書に記載されているように、ポリ(ICL)水溶液の調製過程において、不溶性の沈澱が生じやすい。さらにポリ(ICL)水溶液を凍結乾燥することによる製剤化は、実用上非常に困難なことと考えられていた。実際、ポリ(ICL)水溶液を凍結乾燥した後、蒸留水を加えて再溶解しても澄明な水溶液にはならないため、実用に供し得るものではなかった。

本発明者らはポリ(ICL)の凍結乾燥製剤の開発に取り組み、マンニトール等の水溶性物質を添加して凍結乾燥されたポリ(ICL)は再溶解により澄明な水溶液に再生することを見出した。

〔発明が解決しようとする課題〕

しかし、ポリ(ICL)を凍結乾燥製剤とする

は1.0:0.8~1.2の複合体である。ポリ(I)・ポリ(C)は通常ナトリウム塩として用いられ、水溶液又は凍結乾燥品のいずれの形態であっても良い。

ポリーレーリジンは、通常その奥化水素酸塩又は塩化水素酸塩が用いられ、平均分子量は5,000~50,000のものが好ましい。

本発明に適用される可溶性蛋白及び多糖類は、ポリ(ICL)凍結乾燥製剤及びその保存における安定性を向上しうる性質を有するものである限り、特に限定されないが、例えば可溶性蛋白としてはゼラチン、コラーゲン及び血清アルブミン等が、又、多糖類としては中性多糖類であるデキストラン及びデキストリン等、並びに酸性多糖類であるコンドロイチン硫酸等が挙げられる。

ゼラチンは、酸処理ゼラチンが好ましいが特に限定されない。コラーゲンは、抗原性の点からヒト由來のものが好ましいが、入手が容易なアテロコラーゲン(コラーゲンの末端部位に存在するペプチドを化学的に削除したもの。)であっても良

い。又、血清アルブミンは牛血清アルブミン及びヒト血清アルブミンのいずれであっても良いが、精製が充分でないとリボヌクレアーゼ活性を有する所以があるので充分精製されたものであることが好ましい。又、コンドロイチン硫酸等の酸性多糖類は通常ナトリウム塩及びカリウム塩が用いられるが、特に限定されない。

可溶性蛋白の添加量は、ポリ(ICL) 1重量部に対して 0.3 ~ 3.0 重量部が好ましく、又、多糖類の添加量は、ポリ(ICL) 1 重量部に対して 0.1 ~ 3.0 重量部であることが好ましい。又、可溶性蛋白と多糖類を併用する場合の両者の使用比率は、その種類に応じて任意に選択決定すれば良い。例えば、可溶性蛋白 : 多糖類 = 1 : 0.1 ~ 2.0 に調製したものをポリ(ICL) 1 重量部に対して 0.3 ~ 3.0 重量部添加するものが好ましい。

本発明の凍結乾燥剤を製造するには、まず、ポリ(I)・ポリ(C)に必要ならば注射用蒸留水を加えて 0.1 ~ 5.0 mg/ml の水溶液とする。

別に、ポリ-レーリジンの臭化水素酸塩を注射用蒸留水に溶解し、0.2 ~ 2.0 mg/ml の水溶液とする。次に、ポリ(I)・ポリ(C)水溶液に、ポリ-レーリジン水溶液を徐々に滴加し、搅拌することによりポリ(ICL)水溶液を調製する。この際、ポリ(I)・ポリ(C)とポリ-レーリジンの混合比は、ポリ(I)・ポリ(C)のリン酸基とポリ-レーリジンのε位のアミノ基のモル比が 1.0 : 0.5 ~ 2.0 であることが好ましい。得られたポリ(ICL)水溶液に、あらかじめ注射用蒸留水に溶解した可溶性蛋白及び/又は多糖類の水溶液を混合し、必要ならばメンプランフィルターで通過した後、アンプル又はバイアル瓶に充填し、常法に従って凍結乾燥して密封すれば良い。

なお本発明の製剤には所望により塩酸、水酸化ナトリウム、塩化ナトリウム、リン酸ナトリウム、ブドウ糖、果糖及びマンニトール等の通常の添加剤を加えることができる。又、pH は 3 ~ 9 の範囲であることが好ましい。

【実施例】

実施例 1

沈降定数 6 S のポリ(I)と 9 S のポリ(C)で、スクレオチドとして等モルよりなるポリ(I)・ポリ(C)の凍結乾燥品 6.7 mg を注射用蒸留水 3.0 ml に溶解し、ポリ(I)・ポリ(C)水溶液とした。別に、平均分子量 34,000 のポリ-レーリジンの臭化水素酸塩 2.7 mg を注射用蒸留水 3.0 ml に溶解し、ポリ-レーリジン水溶液とした。次に、ポリ(I)・ポリ(C)水溶液にポリ-レーリジン水溶液を徐々に注入した。得られたポリ(ICL)水溶液に、平均分子量 5,000 の酸処理ゼラチンの 5% 水溶液 6 ml を混合し、孔径 0.22 ミクロンのメンプランフィルターで無菌通過した。その後バイアル瓶に充填し、凍結乾燥して密封し、凍結乾燥剤とした。

実施例 2

実施例 1 で用いた 5% ゼラチン水溶液の代わりに、平均分子量 40,000 のデキストランの 10% 水溶液を用いて、実施例 1 と同様に操作し凍結乾燥

剤とした。

実施例 3

実施例 1 で用いた 5% ゼラチン水溶液の代わりに、2% ゼラチンを含む 20% マンニトール水溶液を用いて、実施例 1 と同様に操作し凍結乾燥剤とした。

実施例 4

実施例 1 で用いた 5% ゼラチン水溶液の代わりに、5% 牛血清アルブミン水溶液を用いて、実施例 1 と同様に操作し凍結乾燥剤とした。

実施例 5

実施例 1 で用いた 5% ゼラチン水溶液の代わりに、10% コンドロイチン硫酸ナトリウム水溶液を用いて、実施例 1 と同様に操作し凍結乾燥剤とした。

実施例 6

実施例 1 で用いた 5% ゼラチン水溶液の代わりに、2% のゼラチンを含む 10% デキストラン水溶液を用いて、実施例 1 と同様に操作し凍結乾燥剤とした。

実施例 7

実施例 1 で用いた 5% ゼラチン水溶液の代わりに、2% のゼラチンを含む 10% コンドロイチン硫酸ナトリウム水溶液を用いて、実施例 1 と同様に操作し凍結乾燥製剤とした。

比較例

実施例 1 で用いた 5% ゼラチン水溶液の代わりに、20% マンニトール水溶液を用いて、実施例 1 と同様に操作し凍結乾燥製剤とした。

試験例

実施例 1、2 及び 3 で調製した本発明の製剤それぞれ A、B 及び C 並びに比較例で調製した比較製剤 D の安定性の比較を行った。即ち、各々の製剤を 25°C で 60 日間保存し、経時的に、往復用蒸留水で再溶解したときの透明度を、650 nm 及び 420 nm における吸光度を測定することにより調べた。又、再溶解後のポリ (ICL) の分子量分布を H P - G P C 用カラムを用いて測定した。その結果を第 1 表、第 1 図及び第 2 図に示す。再溶解したとき、比較製剤 D では経時的に透明性の

低下がみられ、分子量分布も変化した。それに対し、本発明の製剤 A、B 及び C では透明性及び分子量分布が殆ど変化せず、保存安定性が著しく改善されていることが判る。

第 1 表 ポリ (ICL) 凍結乾燥品の再溶解後の透明性

	製剤 A	製剤 B	製剤 C	比較製剤 D
处方	0.5% -ゼラチン 1% -デキストラン 0.5% ゼラチン		25-77ニトール 0.5% ゼラチン	2% -マンニトール 0.5% ゼラチン
波 長	650 nm 420 nm 650 nm 420 nm 650 nm 420 nm 650 nm 420 nm			
凍結乾燥前	0.002 0.013 0.001 0.007 0.001 0.008 0.001 0.005			
凍結乾燥直後	0.006 0.018 0.005 0.009 0.003 0.010 0.005 0.007			
保存後 7 日目	0.003 0.016 0.004 0.012 0.002 0.010 0.067 0.095			
保存後 14 日目	0.003 0.016 0.003 0.010 0.003 0.009 0.162 0.194			
保存後 30 日目	0.004 0.018 0.004 0.012 0.002 0.010 0.155 0.156			
保存後 60 日目	0.004 0.017 0.008 0.013 0.002 0.009 0.143 0.255			

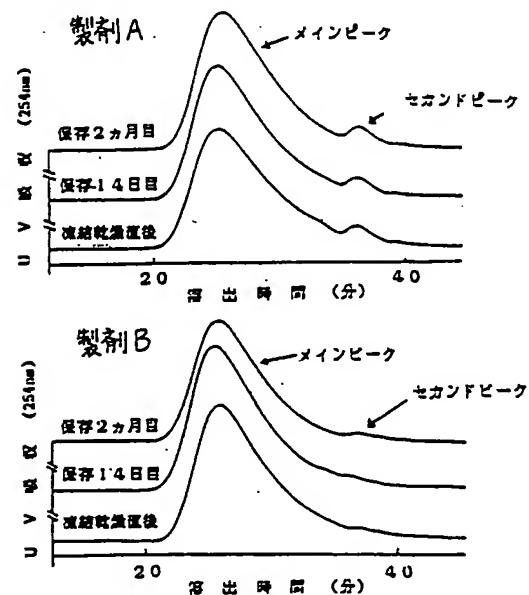
4. 図面の簡単な説明

第 1 図は、本発明の製剤 A、B を蒸留水で溶解した後の H P - G P C 用カラムによる溶出曲線である。横軸は溶出時間、縦軸は 254 nm における

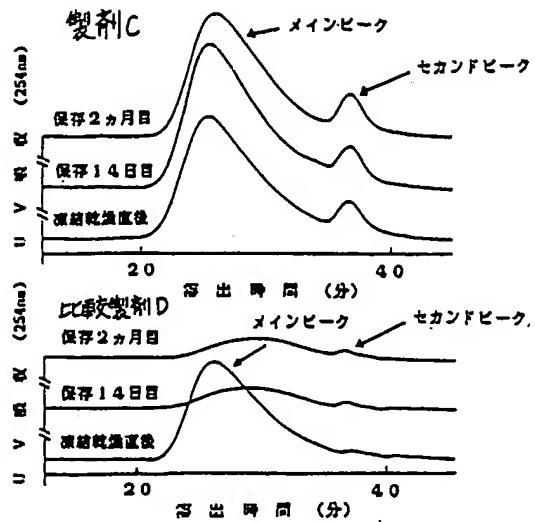
UV 吸収である。又、それその製剤の溶出曲線は、下から凍結乾燥直後、保存後 14 日目及び 2カ月目のものである。溶出曲線上のピークは、溶出時の早い方から、メインピーク、セカンドピークとし、メインピークはポリ (ICL) に由来するピークであり、セカンドピークは製剤中に含まれるゼラチン等に由来するものである。

第 2 図は、本発明の製剤 C および比較製剤 D を蒸留水で溶解した後の H P - G P C 用カラムによる溶出曲線である。横軸は溶出時間、縦軸は 254 nm における UV 吸収である。又、それその製剤の溶出曲線は、下から凍結乾燥直後、保存後 14 日目及び 2カ月目のものである。溶出曲線上のピークは、溶出時の早い方から、メインピーク、セカンドピークとし、メインピークはポリ (ICL) に由来するピークであり、セカンドピークは製剤中に含まれるゼラチン等に由来するものである。

第 1 図



第2図



特許出願人(677)十ニサ留動能株社
同 トーエイヨー株式会社